

以花生碳量子点为探针基于其荧光猝灭-恢复测定多巴胺的研究

马红燕, 王靖原, 张越诚*, 杨晓军, 陈小莉

延安大学化学与化工学院, 延安市分析技术与检测重点实验室, 陕西 延安 716000

摘要 碳量子点(CQDs)是一种新型的荧光碳纳米功能材料,其良好的生物相容性和优异的光学性能引起了人们的广泛关注。选用富含蛋白质、脂肪和碳水化合物的花生仁(Peanut, PN)及水为原料,无需添加任何其他试剂,在水热反应釜中于190 °C反应20 h,可一步合成绿色发光CQDs。透射电镜(TEM)结果显示,所制备的花生碳量子点(PN-CQDs)的粒径大约在10 nm左右,分布较为均匀;X射线衍射谱(XRD)和傅里叶变换红外光谱(FTIR)显示PN-CQDs晶型为无定型碳,表面富含—OH、—COOH、含氮官能团等亲水性基团,具有良好的水溶性。紫外-可见光谱(UV-Vis)和荧光发射光谱(FL)表明,PN-CQDs在275 nm处有一明显的吸收峰,为CQDs紫外特征吸收峰;该PN-CQDs具有激发波长依赖性,荧光发射峰的位置随激发波长的变化而移动;当激发波长 λ_{ex} 为326 nm时,发射波长 λ_{em} 为408 nm处的荧光强度最大,PN-CQDs发出蓝色的荧光。以硫酸奎宁为参照物,利用参比法测得PN-CQDs的荧光量子产率 ϕ 为5.0%。基于该PN-CQDs良好的发光特性,以其为探针,构建了“关-开”型荧光体系用于多巴胺(Dopamine, DA)的高灵敏度检测。研究表明,在pH 3.80的HAc-NaAc缓冲介质中,Ce(IV)存在下,PN-CQDs与Ce(IV)之间的电子转移反应和Ce(IV)与该PN-CQDs表面基团结合使PN-CQDs发生的聚集作用共同导致PN-CQDs在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=326\text{ nm}/408\text{ nm}$ 处的荧光发生猝灭,荧光信号“关闭”;当加入DA后,DA与结合于PN-CQDs表面的强氧化性Ce(IV)发生反应,从而将Ce(IV)从PN-CQDs表面移除,PN-CQDs的荧光得以恢复,荧光信号重新“打开”。在优化的实验条件下,DA浓度与PN-CQDs在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=326/408\text{ nm}$ 处的荧光恢复值 ΔF 呈良好线性关系,线性范围为 $2.5\times 10^{-7}\sim 1.0\times 10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,决定系数 R^2 为0.997 6,检出限为 $9.0\times 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。探讨了体系的荧光“猝灭-恢复”机理,对PN-CQDs和PN-CQDs-Ce(IV)体系进行了荧光寿命拟合,其加权平均荧光寿命分别为6.02与5.15 ns,Ce(IV)对PN-CQDs荧光猝灭类型为动态猝灭;反应中生成的Ce(III)于 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=251/350\text{ nm}$ 处的荧光对DA的测定无影响。该方法灵敏、简便、快速,应用于实际样品中DA的测定,加标回收率(平均值 \pm SD)在 $97.5\%\pm 1.3\%\sim 103\%\pm 1.5\%$ 之间,结果满意。该研究提供了一种新的DA荧光检测方法,实现了对DA的准确测定。

关键词 碳量子点; 荧光探针; 多巴胺; 硫酸高铈; 花生

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)04-1093-06

引言

多巴胺(Dopamine, DA)是哺乳动物中枢神经系统中最重要的儿茶酚胺神经递质之一,在心血管、肾、激素系统的功能中起着关键作用^[1],但异常的DA水平可能会引起一些脑部疾病^[2]。因此,DA的准确检测对于神经生理学、病理学及临床疾病诊断等至关重要。目前,DA的测定方法主要有HPLC法^[3]、电化学法^[4]、化学发光法^[5]等。荧光法由于其

特有的高灵敏度等优势,在DA的测定中也得到了应用^[6-7],Chen等^[6]设计了一种无机-有机网络配合物为荧光探针,利用DA可使其荧光猝灭的特性检测DA;Liu等^[7]利用DA能猝灭MoS₂量子点来进行DA的定量检测,但该量子点中Mo为重金属,限制了方法的广泛应用。文献中未见将绿色发光CQDs设计为“关-开”型荧光探针测定DA的研究报道。

CQDs是粒径大小一般在10 nm左右,其形状近似为球形的一种新型荧光碳纳米功能材料。由于其易于制备、环境友好、光学性能显著、光稳定性好、细胞毒性低,被誉为荧

收稿日期: 2019-03-14, 修订日期: 2019-07-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860089),延安大学科研计划青年基金项目(YDQ2018-17)资助

作者简介: 马红燕,女,1966年生,延安大学化学与化工学院教授 e-mail: mahy6614@163.com

* 通讯联系人 e-mail: yuechengzhang@outlook.com

光生物传感、生物化学、药物递送和反应催化的新平台^[8]。目前 CQDs 制备所用碳源基本为含碳化合物,过程复杂且对反应仪器要求较高。近年来,一些利用天然生物质为原料制备 CQDs 的方法相继出现。本文以天然物质“花生”为原料,只加入水,无需添加其他试剂,利用一步水热法可直接合成荧光强度高、水溶性和光稳定性好、绿色无毒的花生碳量子点(PN-CQDs),并基于 Ce(IV)可以明显的猝灭该 PN-CQDs 的荧光,加入 DA 后 PN-CQDs 的荧光可以恢复的现象,构建了“关-开”型荧光探针用于 DA 的高灵敏检测。实验对 PN-CQDs 荧光猝灭-恢复的机理进行了探讨。该研究为 DA 的检测提供了新方法,同时也拓展了 CQDs 在药物和分析化学领域的应用范围。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

FLSP920 瞬态稳态荧光光谱仪(英国爱丁堡仪器有限公司); F-4500 荧光光度计(日本日立仪器公司); IR Prestige-21 傅里叶变换红外光谱仪(日本岛津仪器公司); HT7700 透射电镜(日本日立仪器公司); 8453 型紫外-可见分光光度计(美国安捷伦仪器有限公司); XRD-7000 X 射线粉末衍射仪(日本岛津仪器公司)。

称取 DA 标准品(中国药品生物制品检定所)0.019 0 g 以水溶解后定容至 100 mL,配成浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DA 标准溶液,4 °C 保存待用。实验所用 Ce(SO₄)₂ 溶

液浓度为 $0.003 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。缓冲溶液为 pH 3.80 的 HAc-NaAc。实验中所有化学试剂均 AR 级,花生仁购于当地超市。实验用水为 UP 超纯水。

1.2 方法

PN-CQDs 的合成:称取 8.0 g 磨碎花生仁于 50 mL 聚四氟乙烯水热反应釜中,加入 30.0 mL 水,搅拌均匀后置于真空干燥箱中,于 190 °C 反应 20 h,待冷却至室温后,经滤纸过滤后用 0.22 μm 微滤膜再次过滤并定容于 100 mL 容量瓶中。PN-CQDs 工作液为原液稀释 200 倍,备用。

在 10 mL 比色管中依次加入稀释 200 倍的 PN-CQDs 工作液 2.00 和 3.00 mL HAc-NaAc 缓冲溶液(pH 3.80),Ce(SO₄)₂ 溶液 0.80 mL,再加入不同浓度的 DA 溶液,定容。于反应条件为 80 °C 恒温水浴中加热 10 min,流水冷却 5 min 后,在 PN-CQDs 最佳激发 $\lambda_{\text{ex}} = 326 \text{ nm}$ 下测定体系的荧光强度,激发和发射狭缝宽度均为 5 nm。当实验中激发波长 λ_{ex} 为 251 nm 时,激发和发射狭缝宽度均为 2.5 nm。

2 结果与讨论

2.1 CQDs 的表征

通过透射电镜对 PN-CQDs 进行了表征,结果如图 1(a)所示,所制得的 PN-CQDs 分散度较好,分布较为均匀,插图为 PN-CQDs 的粒径分布图,由图可知 PN-CQDs 的粒径大约在 10 nm 左右。

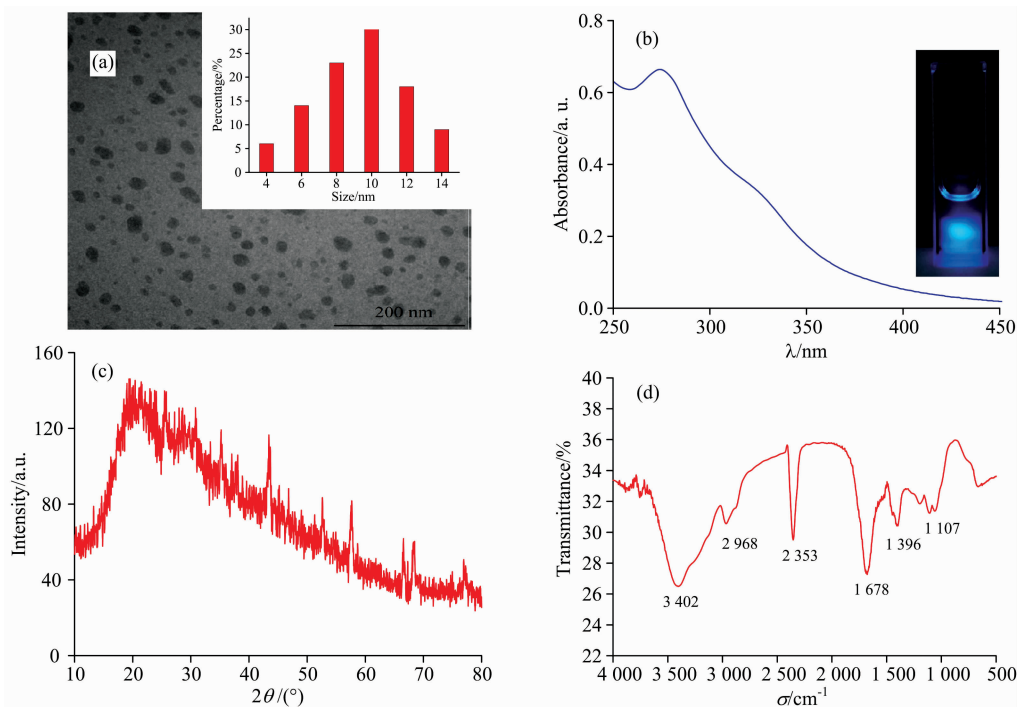


图 1 PN-CQDs 的 TEM 图(a)、紫外-可见吸收光谱(b)、XRD 图(c)和红外光谱图(d)

Fig. 1 TEM image (a), UV-Vis absorbance spectrum (b), XRD spectrum (c) and FTIR spectrum (d) of PN-CQDs

图 1(b)为 PN-CQDs 的紫外-可见吸收光谱图,插图为 PN-CQDs 在 326 nm 波长激发下,发出的蓝色荧光。由图可

见:PN-CQDs 在 275 nm 处有一明显的吸收峰,该位置的峰为 CQDs 紫外吸收特征峰,可能与 C=O 双键的 $n-\pi^*$ 跃迁

有关^[9]。

对 PN-CQDs 溶液进行干燥处理, 得到固态 PN-CQDs, XRD 表征结果如图 1(c) 所示, 其衍射峰为 $2\theta = 21.46^\circ$, 该峰是碳无定形态特征峰, 因此确定该 PN-CQDs 的晶型为无定型碳, 这归因于高度无序的碳颗粒^[10]。

PN-CQDs 的 FTIR 见图 1(d), 由图可知: $3\ 402\ \text{cm}^{-1}$ 为—OH 的伸缩振动, $2\ 353\ \text{cm}^{-1}$ 处可能是 $\text{C}\equiv\text{C}$ 键、 $\text{C}\equiv\text{N}$ 键等的伸缩振动, $1\ 678\ \text{cm}^{-1}$ 为 $\text{C}=\text{O}$ 的特征吸收峰, $\text{C}=\text{N}$ 键伸缩振动吸收峰为 $1\ 396\ \text{cm}^{-1}$, $1\ 107\ \text{cm}^{-1}$ 处为 $\text{C}-\text{O}$ 键的伸缩振动, $2\ 968\ \text{cm}^{-1}$ 附近的双峰为 $\text{C}-\text{H}$ 键的伸缩振动。说明该 PN-CQDs 的表面富含—OH、—COOH、含氮官能团, 因此其具有良好的水溶性。

2.2 CQDs 的荧光特性

探究了不同激发波长 λ_{ex} 下 PN-CQDs 的荧光光谱, 如图 2 所示。由图可知, 该 PN-CQDs 的发射波长 λ_{em} 和强度强烈依赖于 λ_{ex} 。随着 λ_{ex} 由 296 nm 增加到 356 nm, λ_{em} 由 400 nm 红移至 425 nm, 荧光强度先增大后减小, 其原因可能是 PN-CQDs 表面的缺陷、发射位点的数量和位置不同所致。当 λ_{ex} 为 326 nm 时, 荧光强度达到最大, 故实验所选 λ_{ex} 为 326 nm。

根据文献^[11]以硫酸奎宁为参照物质, 利用参比法, 计算得出 PN-CQDs 的荧光量子产率 φ 为 5.0%。

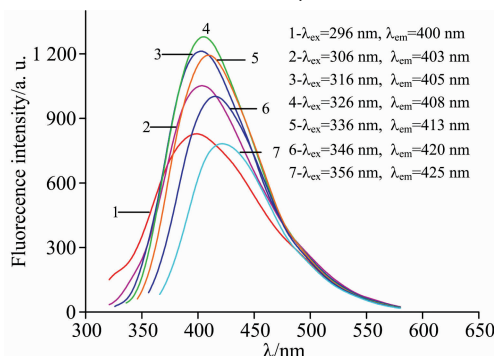


图 2 不同激发波长下 PN-CQDs 的荧光光谱
Fig. 2 Fluorescence spectra of PN-CQDs obtained at different excitation wavelengths

2.3 Ce(IV) 对 PN-CQDs 的猝灭作用

由图 3 体系的荧光光谱图可以看出, 在 PN-CQDs(曲线

7) 中加入 Ce(IV) 后, 体系在 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 326\ \text{nm}/408\ \text{nm}$ 处的荧光强度降低(曲线 1), PN-CQDs 的荧光信号发生明显猝灭。同时发现, 体系在 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 251\ \text{nm}/350\ \text{nm}$ 处出现了新的荧光峰(曲线 8)。而 Ce(III) 的特征激发波长为 251 nm, 特征发射波长为 350 nm^[12], 说明 PN-CQDs 与 Ce(IV) 之间发生电子转移生成了强荧光性的 Ce(III), PN-CQDs 自身荧光信号“关闭”。

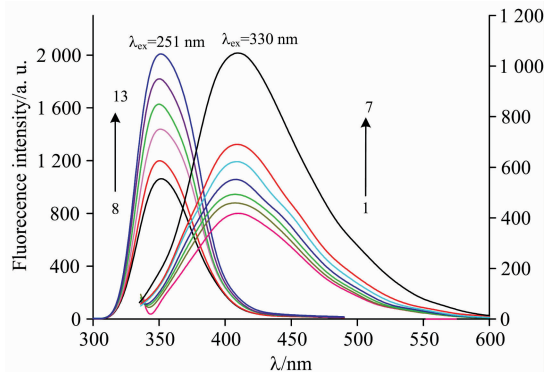


图 3 Ce(IV) 和 DA 存在下体系的荧光光谱图

$\lambda_{\text{ex}} = 251\ \text{nm}$, 狭缝宽度均为 2.5 nm; $\lambda_{\text{ex}} = 326\ \text{nm}$, 狭缝宽度均为 5 nm
注: 图 3 中每条线的含义: 7: CQDs; 1 和 8: CQDs+Ce(IV); 2—6 和 9—13: CQDs+Ce(IV) 中分别加入 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA; (曲线 1—7 对应右侧纵坐标值, 曲线 8—13 对应左侧纵坐标值)

Fig. 3 Fluorescence spectrum of the system in the presence of Ce(IV) and DA

$\lambda_{\text{ex}} = 251\ \text{nm}$, EX/EM Slit 2.5 nm; $\lambda_{\text{ex}} = 326\ \text{nm}$, EX/EM Slit 5 nm
Note: The meanings of each line in Fig. 3 are: 7: CQDs; 1 and 8: CQDs+Ce(IV); 2—6 and 9—13: CQDs+Ce(IV) with 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA, respectively; (Curve 1—7 corresponds to the right ordinate value, curve 8—13 corresponds to the left ordinate value)

实验对 PN-CQDs 和 PN-CQDs-Ce(IV) 进行了荧光寿命的测定, 结果如表 1, 其加权平均荧光寿命分别为 6.02 与 5.15 ns, PN-CQDs-Ce(IV) 与 PN-CQDs 体系相比, 荧光寿命缩短, 证实 Ce(IV) 使 PN-CQDs 荧光猝灭为动态猝灭^[13], 即 Ce(IV) 与激发态的 PN-CQDs 之间发生了电子转移导致 PN-CQDs 荧光猝灭。

表 1 PN-CQDs 和 PN-CQDs-Ce(IV) 的荧光寿命值

Table 1 Fluorescence lifetime values of PN-CQDs and PN-CQDs-Ce(IV)

名称	τ_1	τ_2	τ_3	τ/ns	χ^2
PN-CQDs	1.06 ns/(15.44%)	3.68 ns/(42.99%)	10.29 ns(41.58%)	6.02	1.128
PN-CQDs-Ce(IV)	0.37 ns/(25.06%)	2.81 ns/(35.48%)	10.28 ns/(39.45%)	5.15	1.259

注: τ 为荧光寿命; χ^2 为卡方检验

2.4 多巴胺对 PN-CQDs-Ce(IV) 体系荧光的恢复

向上述 PN-CQDs-Ce(IV) 体系(曲线 1) 中加入不同浓度的 DA, 如图 3 所示, $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 326\ \text{nm}/408\ \text{nm}$ 处和 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 251\ \text{nm}/350\ \text{nm}$ 的荧光峰均随 DA 浓度的增加而有规律的增大, $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 326\ \text{nm}/408\ \text{nm}$ 处 PN-CQDs 荧光信号得以恢

复。 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 326\ \text{nm}/408\ \text{nm}$ 为 PN-CQDs 的特征荧光峰, 此处荧光信号的恢复表明, 当 Ce(IV) 加入到 PN-CQDs 溶液后, PN-CQDs 荧光信号的猝灭除了 Ce(IV) 与 PN-CQDs 之间直接的电子转移作用外, 还可能有一部分 Ce(IV) 会与 PN-CQDs 的表面—OH 和—COOH 等基团进行结合^[14], 使 PN-

CQDs 发生聚集,从而也导致 PN-CQDs 荧光猝灭,使得 PN-CQDs 荧光信号“关闭”。DA 加入后,由于其强的还原性,更易与结合于 PN-CQDs 表面的 Ce(IV) 发生反应,将结合于 PN-CQDs 表面的 Ce(IV)“去除”,PN-CQDs 被不断释放出来,导致 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 326 \text{ nm}/408 \text{ nm}$ 处荧光信号增大,PN-CQDs 的荧光信号“打开”;同时,DA 与表面移除下来的 Ce(IV) 反应生成 Ce(III) 使 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 251 \text{ nm}/350 \text{ nm}$ 下的荧光信号也表现出了同步增强。

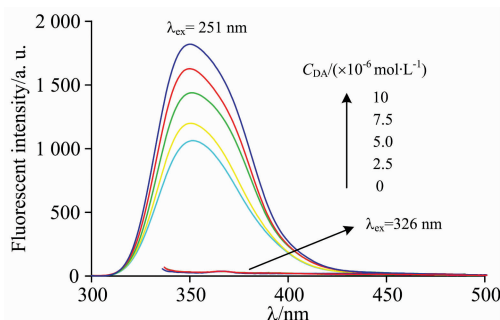


图 4 Ce(IV)-DA 体系在不同 λ_{ex} 下的荧光光谱图

$\lambda_{ex} = 251 \text{ nm}$, 狭缝宽度均为 2.5 nm ; $\lambda_{ex} = 326 \text{ nm}$, 狭缝宽度均为 5 nm

Fig. 4 Fluorescence spectra of Ce(IV)-DA system under different excitation

$\lambda_{ex} = 251 \text{ nm}$, EX/EM Slit 2.5 nm ; $\lambda_{ex} = 326 \text{ nm}$, EX/EM Slit 5 nm

为验证上述推测,在一定量的 Ce(IV) 中加入不同浓度 DA 进行实验,结果如图 4 所示。由图可知,随 DA 浓度增加,Ce(IV) 与 DA 反应生成的 Ce(III) 在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 251 \text{ nm}/350 \text{ nm}$ 下荧光强度逐渐升高,但在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 326 \text{ nm}/408 \text{ nm}$ 下几乎没有荧光,说明体系中反应生成的 Ce(III) 对 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 326 \text{ nm}/408 \text{ nm}$ 下的荧光强度的测定不会造成影响。根据 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 326 \text{ nm}/408 \text{ nm}$ 波长处荧光信号的恢复值可直接进行 DA 的测定。

综上所述,当 Ce(IV) 加入到 PN-CQDs 溶液后,PN-CQDs 与 Ce(IV) 之间的电子转移反应(如图 5 中的路线 A)和 Ce(IV) 与 PN-CQDs 表面基团的结合作用(如图 5 中的路线 B)共同导致 PN-CQDs 荧光猝灭,DA 能将结合于 PN-CQDs 表面的 Ce(IV)“去除”,使 PN-CQDs 荧光恢复。体系反应原理如图 5 所示。

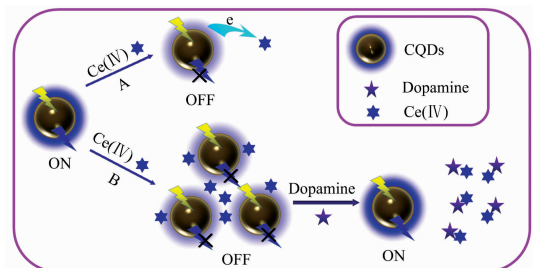


图 5 体系反应原理图

Fig. 5 Schematic diagram of system reaction

2.5 多巴胺测定条件优化

对测定 DA 时体系的酸度、缓冲溶液用量、猝灭剂 Ce

$(\text{SO}_4)_2$ 的用量、PN-CQDs 的用量进行了优化,结果如图 6。图 6 表明,加入 3.00 mL pH 3.80 的 HAc-NaAc 缓冲溶液、 $0.003 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 溶液 0.80 和 2.00 mL PN-CQDs 时,体系的荧光恢复值最大。

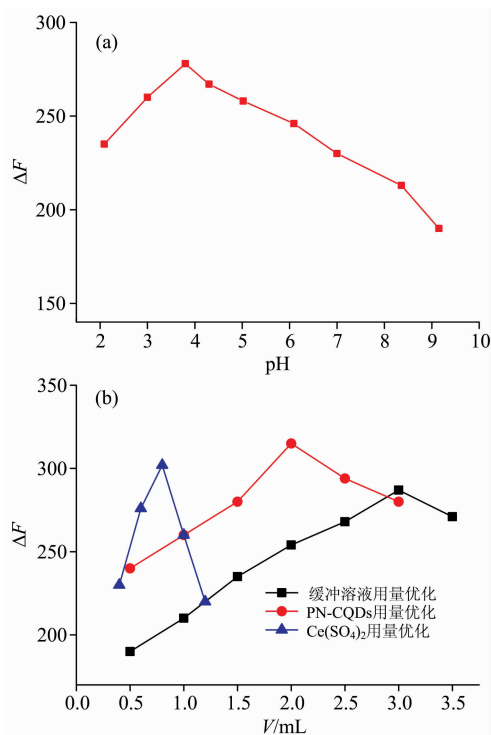


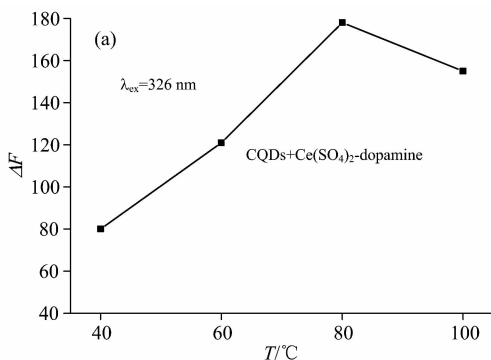
图 6 缓冲溶液 pH 值的选择 (a); 缓冲溶液、 $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 和 PN-CQDs 用量 (b) 对体系的影响

Fig. 6 The pH value of the buffer solution (a); the effect of buffer, $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ and PN-CQDs dosage (b) on the system

实验发现,反应在室温下进行的比较缓慢,故实验中采用水浴加热来提高反应速率。探究了不同的温度下的加热时间,如图 7 所示,在 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 的恒温水浴中加热 10 min ,PN-CQDs 荧光信号恢复程度 ΔF 可达最大,且在 20 h 内基本不变。

2.6 干扰测定

在优化的实验条件下,DA 浓度为 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,考察了可能存在的离子和药剂辅料对实验的影响,结果如表 2 所示。



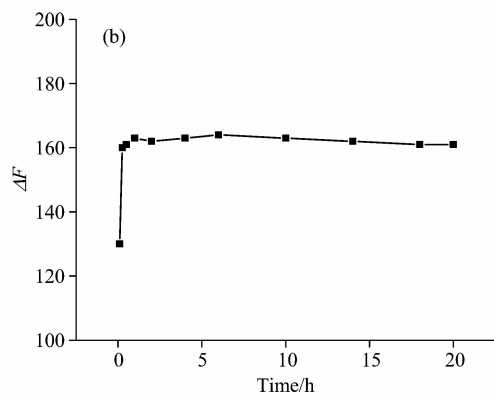


图 7 反应温度 (a) 和时间 (b) 的影响

Fig. 7 Effect of reaction temperature (a) and time (b)

表 2 干扰物质对体系的影响

Table 2 The influence of interfering substances on the system

干扰物质	共存浓度/($\times 10^{-5}$ mol \cdot L $^{-1}$)	相对误差/%	干扰物质	共存浓度/($\times 10^{-5}$ mol \cdot L $^{-1}$)	相对误差/%
葡萄糖	1 000	2.1	I $^{-}$	1 000	-1.1
果糖	1 000	-2.4	NO $_3^{-}$	1 000	3.7
蔗糖	1 000	-3.1	Cl $^{-}$	1 000	3.3
淀粉	1 000	1.6	S $^{2-}$	500	4.4
Cu $^{2+}$	1 000	-1.3	Mn $^{2+}$	500	-2.2
Al $^{3+}$	1 000	-4.3	Zn $^{2+}$	500	1.8
Ag $^{+}$	1 000	1.2	Mg $^{2+}$	500	-4.1
Ca $^{2+}$	1 000	-3.2	Fe $^{3+}$	10	2.7
SO $_4^{2-}$	1 000	2.4			

表 3 加标回收实验 ($n=5$)Table 3 Standard addition recovery experiment ($n=5$)

Sample	Labeled/(mg \cdot inj $^{-1}$)	Measured/(mg \cdot inj $^{-1}$)	Added/($\times 10^{-7}$ mol \cdot L $^{-1}$)	Found/($\times 10^{-7}$ mol \cdot L $^{-1}$)	Recovery (mean \pm SD)/%
1	20.0	19.5	10.0	9.75	97.5 \pm 1.3
2	20.0	20.6	10.0	10.3	103 \pm 1.5

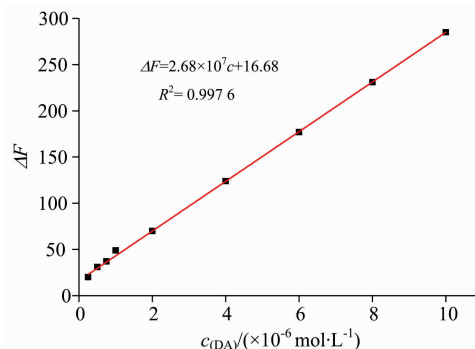
注: 1 为上海禾丰制药有限公司, 产品批号: 33160302; 2 为上海禾丰制药有限公司, 产品批号: 33170812

3 结 论

采用一步水热法合成了强荧光 PN-CQDs。基于 DA 可

2.7 方法分析性能

DA 浓度在 $2.5 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol \cdot L $^{-1}$ 的范围内与 PN-CQDs-Ce(IV) 体系荧光恢复值呈一定的线性关系。图 8 显示其线性方程为 $\Delta F = 2.68 \times 10^7 c + 16.68$, 决定系数 R^2 为 0.997 6。方法相对标准偏差为 1.3% ($c = 1.0 \times 10^{-5}$ mol \cdot L $^{-1}$, $n=5$), 检出限低至 9.0×10^{-8} mol \cdot L $^{-1}$ 。

图 8 PN-CQDs-Ce(SO $_4$) $_2$ -DA 的线性回归方程Fig. 8 Linear regression equation of PN-CQDs-Ce(SO $_4$) $_2$ -DA

2.8 样品测定

取同一批次的 DA 5 支 (规格: 10 mg \cdot mL $^{-1}$), 准确量取其体积 1.9 mL (相当于 DA 0.019 0 g), 用水定容于 100 mL 容量瓶中。移取适量, 按照实验方法进行测定。从表 3 中可以看出加标回收率 (平均值 \pm SD) 在 97.5% \pm 1.3% \sim 103% \pm 1.5% 之间。

使被 Ce(IV) 猝灭的 PN-CQDs 荧光信号重新恢复的现象, 实现了对 DA 的定量测定, 该方法灵敏度高、操作简单、绿色环保、成本低廉。该研究拓展了 CQDs 在分析化学领域的应用范围, 为一些药物的荧光检测提供了新思路。

References

- [1] van Staden J F, State R. Anal. Lett., 2016, 49(17): 2783.
- [2] Kwak M, Lee S, Kim D, et al. J Electroanal. Chem., 2016, 776: 66.
- [3] QI Wei-mei, ZHAO Xian-en, QI Yong, et al(仝伟梅, 赵先恩, 仝永, 等). Chinese Journal of Chromatography(色谱), 2015, 33(9): 981.
- [4] Ali A, Jamal R, Abdiryim T, et al. J. Electroanal. Chem., 2017, 787: 110.
- [5] Zhang L, Tang Z R, Dong Y P. Analytical Methods, 2018, 10(34): 4129.
- [6] Chen M, Zheng Y, Gao J, et al. Microchim. Acta, 2017, 184(7): 2275.
- [7] Liu X, Zhang W, Huang L, et al. Mikrochim. Acta, 2018, 185(4): 234.
- [8] LI Ling-ling, NI Gang, WANG Jia-nan, et al(李玲玲, 倪刚, 王嘉楠, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析),

- 2016, 36(9): 2846.
- [9] LIU Yu-shan, LI Wei, WU Peng, et al(刘禹杉, 李伟, 吴鹏, 等). Progress in Chemistry(化学进展), 2018, 30(4): 349.
- [10] Dong Y, Chen Y, You X, et al. Nanoscale, 2017, 9(3): 1028.
- [11] REN Gang, MA Hong-yan, TIAN Rui, et al(任岗, 马红燕, 田锐, 等). Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室), 2016, 35(3): 305.
- [12] AI ZI TI AI LI A-Bu-Li-Ke-Mu, AI ER KEN Si-Di-Ke(艾孜提艾力·阿布力克木, 艾尔肯·斯地克). Journal of Functional Materials(功能材料), 2012, 43(16): 2203.
- [13] XU Jin-gou, WANG Zun-ben(许金钩, 王尊本). Fluorescence Analysis(荧光分析法). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2006. 69.
- [14] Singhal P, Vast B G, Jha S K, et al. Acs Appl. Mat. Interfaces., 2017, 9(24): 20536.

Determination of Dopamine by Fluorescence Quenching-Recovery Method with Peanut Carbon Quantum Dots as Probe

MA Hong-yan, WANG Jing-yuan, ZHANG Yue-cheng*, YANG Xiao-jun, CHEN Xiao-li

College of Chemistry and Chemical Engineering, Yan'an Key Laboratory of Analytical Technology and Detection, Yan'an University, Yan'an 716000, China

Abstract As a new type of fluorescent carbon nano-functional materials, carbon quantum dots (CQDs) have extensively captured attention due to their excellent biocompatibility and outstanding optical properties. In this work, a one-step method was developed for the preparation of green non-polluting CQDs with strong fluorescence by using water and peanut rich in protein, fat and carbohydrate as precursors in a hydrothermal reactor at 190 °C for 20 h. Transmission electron microscopy (TEM) showed that the particle size distribution of the peanut CQDs (PN-CQDs) was relatively uniform. X-ray powder diffraction (XRD) showed that the crystalline form of PN-CQDs was amorphous carbon, which was attributed to highly disordered carbon particles. The infrared transform spectrum (FTIR) indicated that the surface of the PN-CQDs was rich in hydrophilic groups such as hydroxyl, carboxyl and nitrogen-containing functional groups, so it had good water solubility. Then the ultraviolet-visible spectra (UV-Vis) of the PN-CQDs was measured. There was an obvious absorption peak at 275 nm, which was the characteristic ultraviolet-visible absorption peak of CQDs. The fluorescence spectra results showed that CQDs prepared by peanut had a characteristic of excitation wavelength dependence, and their emission peaks significantly changed with the excitation wavelengths. When excited at the optimal excitation wavelength of 326 nm, the maximum emission wavelength was 408 nm, and PN-CQDs could emit blue fluorescence with highest fluorescence intensity. The fluorescence quantum yield of PN-CQDs measured by the reference method was 5.0%. Based on its luminescent properties, a "off-on" fluorescent method was constructed for high sensitivity detection of dopamine by using the PN-CQDs as a probe. The experiments indicated that in pH 3.80 HAc-NaAc buffer solution, when Ce(IV) was added in PN-CQDs solution, the fluorescence of PN-CQDs was quenched, and the fluorescence signal of the system was in the "off" state. It was found that both electron transfer from PN-CQDs to Ce(IV) and aggregation of PN-CQDs were responsible for the PN-CQDs fluorescence quenching at $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 326 \text{ nm}/408 \text{ nm}$. In the presence of dopamine, the fluorescence of PN-CQDs was recovered because Ce(IV) preferred to react with dopamine, which resulted in the departure of Ce(IV) from the surface of the PN-CQDs, and the fluorescence signal of the system was "open". Under the optimal conditions, the recovered fluorescence value ΔF of PN-CQDs at $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 326 \text{ nm}/408 \text{ nm}$ were linearly related with the dopamine concentration in the range 2.5×10^{-7} to $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, the detection limit was $9.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and the coefficient of determination R^2 was 0.9976. The fluorescence quenching-recovery mechanism of the system was discussed. The fluorescence lifetimes of PN-CQDs and PN-CQDs-Ce(IV) systems were 6.02 and 5.15 ns, respectively. The fluorescence quenching type of Ce(IV) on PN-CQDs was dynamic quenching. The fluorescence of Ce(III) generated in the reaction at $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 251 \text{ nm}/350 \text{ nm}$ had no effect on the determination of dopamine. The method was sensitive, selective, simple and rapid. It has been applied to the determination of dopamine in practical samples with satisfactory results. The recovery (mean \pm SD) was between $97.5\% \pm 1.3\% \sim 103\% \pm 1.5\%$. The study can expand the application of CQDs in the field of analytical chemistry and provide new ideas for pharmaceuticals fluorescence analysis.

Keywords Carbon quantum dots; Fluorescence probe; Dopamine; Cerium sulfate; Peanut

* Corresponding author

(Received Mar. 14, 2019; accepted Jul. 21, 2019)